



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS  
*CYP11A1\*2C, GSTT1\*0, GSTM1\*0, GSTP1* CON EPOC  
EN UNA MUESTRA DE POBLACIÓN MEXICANA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:**

**KARLA JENESSES MORALES BECERRIL**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. JULIETA RUBIO LIGHTBOURN  
México, DF., 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Hoja de datos del jurado.

1. Datos del alumno  
Morales  
Becerril  
Karla Jenesses  
55 48 06 04  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
306262876
2. Datos del asesor  
Rubio  
Lightbourn  
Julieta
3. Datos del sinodal 1  
Castañeda  
Sortibrán  
América Nitxin
4. Datos del sinodal 2  
Martínez  
Ramírez  
Ollin Celeste
5. Datos del sinodal 3  
Ordaz  
Téllez  
María Guadalupe
6. Datos del sinodal 4  
Ramírez  
Corona  
Fabiola
7. Datos del trabajo escrito  
Asociación de los polimorfismos CYP1A1\*2C, GSTT1\*0, GSTM1\*0, GSTP1 con  
EPOC en una muestra de población mexicana.  
51  
2015

El presente trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. Julieta Rubio Lightbourn y la asesoría de la Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez. Con el apoyo de PAPIIT a los proyectos No. IN210111 y No. IN208314. Y a CONACYT, al proyecto No. 178860.

Agradecemos a la Dra. Alejandra Ramírez Venegas y a la Lic. Enf. Leticia Ochoa Coutiño, de la clínica de EPOC del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” por las facilidades otorgadas para la realización este trabajo. Así mismo, agradecemos a todos nuestros donadores de sangre, sin su colaboración no habría sido posible este trabajo.

# Índice

Resumen .....	7
Capítulo I .....	
1.1. Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC).....	9
1.1.1 Epidemiología de la EPOC a nivel mundial .....	9
1.1.2 Epidemiología de la EPOC en México .....	10
1.2. Factores de riesgo de padecer la EPOC.....	10
1.2.1 Tabaquismo .....	10
1.2.2 Contaminación ambiental .....	12
1.2.2.1 Contaminación exterior .....	12
1.2.2.2 Contaminación interior .....	12
1.2.3 Edad .....	13
1.2.4 Sexo .....	13
1.2.5 Factores genéticos .....	14
1.3 Penetrancia genética .....	14
1.3.1 Polimorfismos genéticos .....	15
1.3.2 Polimorfismos de nucleótido sencillo .....	16
1.3.3 Deleciones genéticas .....	17
1.4. Metabolismo de xenobióticos .....	17
1.4.1 Asociación con EPOC .....	18
1.4.1.1 Citocromo P450 .....	18
1.4.1.2 Glutación S-Transferasa.....	19
1.4.1.2.1 Glutación S-Transferasa Mu.....	19
1.4.1.2.2 Glutación S-Transferasa Theta.....	20
1.4.1.2.3 Glutación S-Transferasa Pi.....	20
1.5. Antecedentes epidemiológicos.....	20

Capítulo II .....	
2.1 Justificación .....	22
2.2 Hipótesis .....	22
2.3 Objetivos .....	22
2.3.1 Objetivo general .....	22
2.3.2 Objetivos particulares .....	22
Capítulo III.....	
3.1 Diseño del estudio de casos y controles .....	24
3.2 Sujetos.....	24
3.3 Colecta y procesamiento de muestras .....	25
3.4 Genotipificación .....	26
3.5 Análisis estadísticos.....	27
Capítulo IV.....	
4.1 Resultados.....	28
4.2 Discusión .....	40
Capítulo V.....	
5.1 Conclusiones .....	43
Referencias .....	44

## Índice de tablas

Tabla I. Asociación de los polimorfismos con la EPOC en otras poblaciones.....	21
Tabla II. Características de inclusión y exclusión.....	25
Tabla III. Condiciones para la genotipificación de los polimorfismos.....	26
Tabla IV. Frecuencia de los polimorfismos en la muestra de población con diagnóstico de EPOC.....	28
Tabla V. Frecuencia de los polimorfismos en la muestra de población sin diagnóstico de EPOC.....	29
Tablas VI. Características de ambas poblaciones.....	30
Tabla VII. Asociación de la exposición al humo de leña con el sexo.....	31
Tabla VIII. Asociación del tabaquismo con el sexo.....	31
Tabla IX. Asociación de los polimorfismos con la EPOC.....	32
Tabla X. Asociación de los polimorfismos con el sexo.....	33
Tabla XI.I. Asociación de los polimorfismos con la edad.....	34
Tabla XI.II. Asociación de los polimorfismos con la edad.....	35
Tabla XII. Asociación de los polimorfismos con la exposición a humo de leña.....	36
Tabla XIII. Asociación de los polimorfismos con el tabaquismo.....	38

## Resumen

### Asociación de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0*, *GSTP1* con EPOC en una muestra de población mexicana

Karla Jenesses Morales Becerril

Tutora: Dra. Julieta Rubio Lightbourn

Asesora: Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez

Universidad Nacional Autónoma de México

Noviembre, 2015.

**Introducción:** Algunas enfermedades surgen como resultado de la interacción de factores ambientales y variables genéticas, una de ellas es la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC). La EPOC es una enfermedad multifactorial, algunos de los factores de riesgo para el desarrollo son: el tabaquismo, la exposición a humo de leña y los factores genéticos. El metabolismo de xenobióticos es la vía por la cual principalmente se eliminan compuestos que ingresan al organismo. Se ha reportado que el daño causado a los pulmones puede estar asociado a polimorfismos en genes involucrados en este metabolismo, tales como *CYP1A1\*2C*, *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0* y *GSTP1* Ile105Val. **Materiales y Metodos:** Se obtuvieron 150 muestras con diagnóstico de EPOC y 150 muestras sin diagnóstico. Se extrajo el DNA por el método de gradiente de sacarosa. Se realizó la genotipificación por medio de la técnica de PCR-multiplex para los polimorfismos *GSTT1\*0* y *GSTM1\*0* y PCR-RFLP's para los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *GSTP1* Ile105Val. El análisis estadístico se realizó con los programas SPSS y GraphPad Prism 5. **Resultados:** Se obtuvieron las frecuencias alélicas y genotípicas de ambos grupos, no se observaron diferencias significativas entre estos. Se realizó un estudio epidemiológico de casos y controles, utilizando 75 muestras con diagnóstico de EPOC pareadas con 75 muestras sin diagnóstico de EPOC. Se encontró una asociación de riesgo, del tabaquismo con la EPOC (OR= 2.07, IC= 0.988-4.33, p=0.052), al estratificara nuestras muestras por sexo, encontramos dos asociaciones de riesgo, del sexo femenino con la exposición a humo de leña (OR=3.52, IC 1.06-11.6, p= 0.035) y del sexo masculino con el tabaquismo (OR=3.71, IC: 1.00-13.6, p=0.040). Encontramos una asociación de no riesgo del polimorfismo del *CYP1A1\*2C* Val/Val (OR= 0.24, IC= 0.10-0.56, p=0.0007). Al asociar a los polimorfismos con algunos factores de riesgo, observamos que la asociación de no riesgo del polimorfismo

*CYP1A1\*2C*<sup>Val/Val</sup> se mantiene en ambos sexos, en el grupo de 55 a 64 años, en el grupo sin exposición a humo de leña y en el grupo con hábito tabáquico; también, observamos una asociación de no riesgo del polimorfismo *GSTT1\*0* con la exposición al humo de leña y una asociación de riesgo del polimorfismo *GSTM1\*0* con el grupo de mayores de 75 años.

# Capítulo I

## Introducción

### 1.1 Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) ha surgido como la enfermedad respiratoria más importante debido a su alta prevalencia e impacto a nivel mundial, el cual se estima que incrementará en los próximos años (Lange *et al.*, 2012).

La EPOC se caracteriza por una limitación del flujo aéreo persistente, no reversible, generalmente progresiva y asociada a una respuesta inflamatoria exacerbada de las vías aéreas y del parénquima pulmonar frente a partículas o gases nocivos. Las exacerbaciones y comorbilidades que presenta cada paciente influyen en la gravedad de la enfermedad (GOLD, 2011).

Dentro del cuadro clínico de la EPOC tenemos dos enfermedades pulmonares: bronquitis crónica y enfisema pulmonar. Ambas enfermedades se caracterizan por la obstrucción al flujo de aire que interfiere con la respiración normal, con frecuencia estas dos enfermedades coexisten (American Lung Association, 2010).

#### 1.1.1 Epidemiología a nivel mundial

La EPOC es el problema respiratorio de mayor prevalencia e impacto socioeconómico en el mundo (ALAT, 2011). Su prevalencia mundial en personas mayores de 40 años de edad es de más del 10%, es más elevada en fumadores que en exfumadores y es más frecuente en hombres (Ramírez, 2007). En cuanto a los no fumadores, se constató una prevalencia alta, aproximadamente una cuarta parte del total de casos en el estudio realizado por BOLD (Burden of Obstructive Lung Disease), (Buist *et al.*, 2008).

Por su elevada frecuencia, su curso clínico progresivo y sus requerimientos asistenciales constituyen un problema médico de primer orden, siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. Actualmente es la cuarta causa de muerte en el mundo y es la única enfermedad crónica cuya morbi-mortalidad mantiene un incremento sostenido (ALAT, 2011). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS o WHO por sus siglas en inglés World Health Organisation) se estima que cerca de 65 millones de personas con diagnóstico de EPOC, presentan la enfermedad en etapas de moderada a severa.

La prevalencia de la EPOC a nivel mundial se calcula de 9.3 por cada 1000 hombres y 7.3 por cada 1000 mujeres de todas las edades (Murray y Lopez, 1997), sin embargo se observa un aumento abrupto del 10% entre los mayores de 40 años (Chapman, 2006). Se estima que para el año 2030, la EPOC será la tercera causa de mortalidad y morbilidad a nivel mundial (Murray y Lopez, 1997; WHO, 2008).

### **1.1.2 Epidemiología en México**

En México la EPOC es una enfermedad importante por su morbilidad y mortalidad; sin embargo permanece subdiagnosticada y sin ser reconocida como un problema de salud pública (Consenso Mexicano para el diagnóstico y tratamiento de la EPOC, 2012).

La prevalencia calculada para México por el reporte del Proyecto Latinoamericano de Investigación en Obstrucción Pulmonar (PLATINO) es de 7.8% en personas mayores de 40 años, la prevalencia en hombres es de 11% y en mujeres de 5.6%, ésta se incrementa considerablemente con la edad (18.4% en personas > de 60 años versus 4.5% en personas de 50 a 59 años) (Grupo de Neumología y Cirugía de Tórax, 2007).

El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” (INER) ubicó en el 2013 a la EPOC como el cuarto lugar en morbi-mortalidad y estima que la EPOC en México se encuentra entre la 4° y la 6° causa de muerte con una prevalencia igual entre hombres y mujeres (INER, 2013).

## **1.2 Factores de riesgo para el desarrollo de la EPOC**

La EPOC es una enfermedad multifactorial y compleja que está influenciada por factores genéticos, y ambientales, entre otros (Sandford *et al.*, 2002; Antón *et al.*, 2007; Mannino *et al.*, 2007). A continuación se describen los principales factores de riesgo reportados hasta ahora para el desarrollo de la enfermedad.

### **1.2.1 Tabaquismo**

En el siglo XX cien millones de muertes fueron causadas por el tabaquismo y se estima que en el siglo XXI serán hasta mil millones las muertes que podrían ser atribuidas al consumo del tabaco (Laniado-Laborín, 2009).

A nivel mundial, el humo del tabaco es la principal causa para el desarrollo de la EPOC (Mannino, 2007). La OMS estima que en los países de altos ingresos el 73% de las muertes por EPOC están relacionadas con el tabaquismo, mientras que en los países de medios y bajos ingresos están relacionadas en un 40%; actualmente, el consumo del tabaco se está incrementando en todo el mundo (OMS, 2008).

El humo del cigarro contiene una alta concentración de hidrocarburos policíclicos aromáticos, éstos al ser metabolizados pueden producir especies reactivas de oxígeno (ROS), que a su vez pueden inducir la inflamación en los pulmones y en las vías respiratorias, este proceso inflamatorio incluso puede estar presente en fumadores con función pulmonar normal (Saetta, 1999; Brody *et al.*, 2006). Los fumadores y los exfumadores son más propensos que los no fumadores a tener una aceleración en la declinación de la función pulmonar, desarrollar enfermedades respiratorias e infecciones en el tracto respiratorio y presentan una mayor probabilidad de muerte por EPOC (Rennard *et al.*, 2008). A pesar de reportarse una relación directa de la EPOC y con el tabaquismo, es importante considerar otros factores como: la edad en la que se comenzó a fumar, el número de paquetes/año fumados y el estado actual del tabaquismo, ya que podrían ser predictivos de la mortalidad por la EPOC (Pauwels *et al.*, 2004).

No todos los fumadores desarrollan EPOC, sólo alrededor del 15% desarrolla la enfermedad, pero, en cambio más del 50% de los enfermos con EPOC son o han sido fumadores (Burrows *et al.*, 1977; Davis *et al.*, 1989; Lundbäck *et al.*, 2003). Se estima que aproximadamente de un 25-45% de los pacientes con EPOC nunca han fumado (Sundeeep *et al.*, 2009). La exposición pasiva al humo del cigarro por un largo periodo de tiempo es aceptado como un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de pulmón y, actualmente, también ha sido implicado en la etiología de la EPOC (Stern *et al.*, 2007; Jordan *et al.*, 2011).

Por lo tanto, mientras que el cigarro es, sin duda, un factor de riesgo crítico para el desarrollo de la EPOC, hay otros factores sobresalientes que en conjunto contribuyen con el 40% ó 50% restante del riesgo (Rennard *et al.*, 2008). Es conocido que el riesgo para EPOC es dosis-dependiente respecto al consumo del tabaco; sin embargo, el hecho de que no todos los fumadores desarrollen EPOC sugiere que existen otros factores involucrados en la etiología de la EPOC, como la contaminación ambiental, la edad, el sexo y el factor genético (ALAT, 2011).

## **1.2.2 Contaminación ambiental**

La contaminación ambiental se puede dividir en dos grupos, según se localice en el exterior o el interior del hogar (Anton *et al.*, 2007).

### **1.2.2.1 Contaminación exterior**

La OMS estima que la contaminación atmosférica urbana causa el 1% de los casos de EPOC en los países de altos ingresos y el 2% en los países de bajos ingresos (López *et al.*, 2006).

Por otro lado, la contaminación del aire puede afectar a población de todas las edades, sin embargo son más susceptibles los enfermos de EPOC (Liu *et al.*, 2008).

Los principales contaminantes del aire son el dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), ozono (O<sub>3</sub>), dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), material particulado (PM) y el monóxido de carbono (CO). Las principales fuentes de éstas provienen de la combustión incompleta de los vehículos de motor, centrales eléctricas y fábricas. El O<sub>3</sub>, es el constituyente principal del smog, se forma por una serie de reacciones fotoquímicas del oxígeno, óxido de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles en presencia de luz solar y a temperatura cálida (Liu *et al.*, 2008; Ko *et al.*, 2009).

Se han reportado asociaciones estadísticamente significativas entre la disminución de la función pulmonar y la exposición a largo plazo a contaminantes del aire. Además, existen evidencias de que los síntomas respiratorios se asocian con la contaminación del aire (Ko *et al.*, 2009).

En países de altos ingresos con una contaminación del aire constante, se ha asociado la exposición a altos niveles de contaminantes aéreos con un aumento en la mortalidad y la morbilidad por EPOC (Liu *et al.*, 2008).

### **1.2.2.2 Contaminación interior**

La exposición a contaminantes del aire en interiores varía dramáticamente entre países de altos y bajos ingresos (Liu *et al.*, 2008). De acuerdo con la OMS, la contaminación del aire en interiores es responsable de la muerte de 1,6 millones de personas anualmente (WHO,

2007) y se estima que más de 3 mil millones de personas alrededor del mundo utilizan la combustión de sólidos como fuente de energía en sus hogares (WHO, 2006).

Algunos contaminantes de interiores como: material particulado (PM), SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, son generados a partir de actividades de cocina y de calefacción (Viegi et al., 2004). En muchas zonas de África, América central, sureste de Asia y al sur de Asia, más del 90% de los hogares rurales utilizan combustibles sólidos para las actividades de cocina y calefacción; en la mayoría de estas zonas las mujeres son las encargadas de estas actividades por lo que tienden a estar expuestas a niveles mucho más altos de estos contaminantes que los hombres (Kurmi *et al.*, 2008).

El consumo global total de energía a partir de combustiones de biomasa o por biocombustibles es del 12%, su uso es mayor en países de bajos ingresos en comparación con los países de altos ingresos (33% vs 3%) (Smith, 1987). Alrededor del 50% de las muertes por EPOC en países de bajos y medios ingresos son atribuibles al humo de la combustión de biomasa, de los cuales aproximadamente el 75% son mujeres (López *et al.*, 2006).

### **1.2.3 Edad**

La prevalencia, morbilidad y mortalidad por la EPOC se incrementa después de los 40 y 50 años, particularmente en fumadores (Lundbäck *et al.*, 2003). La función pulmonar, que alcanza su nivel máximo en los jóvenes adultos, comienza a declinar en la tercera y cuarta década de vida. Una de las razones para el aumento de la prevalencia de la EPOC en los últimos años es el cambio demográfico de la población mundial, una mayor proporción de la población mundial está viviendo más tiempo (La esperanza de vida a nivel mundial es de 70 años), por lo que está mayor riesgo de trastornos médicos crónicos (Mannino et al., 2007; WHO 2012).

### **1.2.4 Sexo**

Históricamente la EPOC ha sido mucho más frecuente en los hombres que en mujeres, en relación con los patrones de tabaquismo y exposición ocupacional (Silverman *et al.*, 2000).

Actualmente, la prevalencia de la EPOC y la mortalidad debido a ella, incrementan más rápidamente en mujeres, este cambio se atribuye en gran parte a cambios en el estilo de vida (Cambios en las tendencias de fumar en las mujeres durante los últimos 50 años). Sin embargo, existen pruebas que sugieren que los hombres y las mujeres difieren en la susceptibilidad a desarrollar EPOC como consecuencia del tabaquismo y posiblemente debido a los mecanismos hormonales (Aryal *et al.*, 2013).

### **1.2.5 Factores genéticos**

El factor genético más conocido vinculado a la EPOC es una deficiencia de la  $\alpha 1$ -antitripsina (AAT), que se presenta en el 1-3% de los pacientes con EPOC (Stoller *et al.*, 2005).

La AAT pertenece a la familia de la serpina, un grupo de proteínas que inhiben la actividad de la proteasa de serina (Hersh *et al.*, 2005). Es sintetizada mayoritariamente en el hígado y, en menor proporción en los macrófagos alveolares y en los monocitos de sangre periférica. Su principal función es inhibir la elastasa del neutrófilo de manera irreversible, protegiendo la matriz extracelular de su degradación (Antón *et al.*, 2007).

En 1963 Laurell y Eriksson demostraron que individuos con niveles extremadamente bajos de AAT tenían una mayor prevalencia de enfisema; posteriormente se demostró que la deficiencia de AAT está asociado con la isoforma Z (Glu342Lys) (Kueppers *et al.*, 1964; Eriksson 1965). La isoforma Z y los pacientes homocigotos (ZZ) tienen niveles de AAT aproximadamente el 10% de lo normal, lo que concluye en el desarrollo de enfisema. Sin embargo, estos pacientes representan sólo una pequeña proporción (1-2%) de todos los pacientes con enfisema (Kalsheker *et al.*, 1990). El hecho de que no todos los individuos desarrollen enfisema indica que el déficit de AAT por sí solo no es suficiente para causar la enfermedad y que deben estar presentes otros factores de riesgo genéticos (Antón *et al.*, 2007).

### **1.3 Penetrancia genética**

La penetrancia genética se define como la probabilidad de que un gen tenga alguna expresión fenotípica (Oliva, 2004). El término de “penetrancia de un genotipo” se utiliza para referirse al porcentaje de individuos que al presentar cierto genotipo, expresan una enfermedad o confieren cierta susceptibilidad a esta (Oliva, 2004). Dentro de estas,

distinguimos a su vez 2 tipos: las alteraciones de alta penetrancia y las de baja penetrancia (Porta *et al.*, 2005).

Las alteraciones de alta penetrancia, hacen referencia a las mutaciones genéticas que confieren del 80% al 90% de riesgo a desarrollar una enfermedad; mientras que las alteraciones de baja penetrancia, hacen referencia a los polimorfismos genéticos que confieren un riesgo del 1-10% a desarrollar una enfermedad, a menudo se requiere de la participación de otros factores, fundamentalmente factores ambientales (Oliva, 2004; Rom, 2007). Si las interacciones con el medio ambiente son intrínsecas al modo de actuación de los genes de baja penetrancia, estas permanecen “silenciosas”, hasta que algún factor externo las induce (Porta *et al.*, 2005)

Los polimorfismos genéticos en genes de baja penetrancia, debido a su alto porcentaje en la población, se estima que tienen una mayor contribución al desarrollo de ciertas enfermedades en combinación con la exposición a factores ambientales (Rom, 2007)

### 1.3.1 Polimorfismos genéticos ó variantes alélicas

La mayoría de las enfermedades tienen un origen multifactorial, es decir, surgen como resultado de la interacción de múltiples variantes genéticas y diversos factores ambientales (Botstein *et al.*, 2003). La variabilidad fenotípica de cada individuo, la susceptibilidad o la resistencia individual a distintas enfermedades radica principalmente en los polimorfismos (Checa, 2007). Se definen a los polimorfismos como la presencia en una población de dos o más alelos de cualquier sistema, en la que la frecuencia del más raro de ellos no puede explicarse por mutaciones recurrentes (Lisker, 1981). Así, si en una población encontramos, además del gen normal, otro alelo que se presenta con una frecuencia apreciable, diremos que en esa población existe un polimorfismo. La definición de “frecuencia apreciable” es arbitraria, pero puede considerarse del orden mayor al 1% (Cavalli-Sforza *et al.*, 1981).

Los polimorfismos se distinguen terminológicamente de las mutaciones por su frecuencia. Las diferentes formas de los alelos (llamados “polimorfismos”) son más frecuentes que las mutaciones; la frecuencia de estos polimorfismos es aproximadamente de 1 en 1000 pb y representan el tipo de variación más abundante en las poblaciones humanas. (International HapMap Consortium, 2005; Checa, 2007).

En la población humana se han reportado un gran número de polimorfismos en casi todas las poblaciones, aunque las frecuencias de los distintos tipos de polimorfismos pueden variar considerablemente entre poblaciones (Cavalli-Sforza *et al.*, 1981).

### **1.3.2 Polimorfismos de nucleótido sencillo (SNPs)**

La variabilidad fenotípica de cada individuo, así como la susceptibilidad o la resistencia individual a distintas enfermedades radica principalmente en los polimorfismos de nucleótido sencillo (PNS o SNP, del inglés *single nucleotide polymorphisms*) (Checa, 2007), éstos son un cambio de una base en la secuencia de DNA (Vignal *et al.*, 2002) Dado que los humanos son organismos diploides, cada SNP está definido por dos alelos, en una ubicación específica de los correspondientes cromosomas homólogos (Brooks, 1999).

Entre estas posibles variaciones existen algunas que pueden causar efectos funcionales; como lo son los SNP presentes en regiones codificantes (exones), los cuales generan un cambio en un aminoácido, este cambio puede afectar la función de la proteína. También se pueden presentar variaciones localizadas en la región promotora del gen, afectando su actividad transcripcional (modulando la unión de factores de transcripción), puede también estar localizadas en intrones (modulando la estabilidad del RNAm), en sitios de “splicing” (sitios donde ocurre el procesamiento de intrones y unión de exones) o en regiones intergénicas (Shorck *et al.*, 2000).

Cuando los SNPs se presentan en regiones codificantes, en la primera o segunda posición de un codón, pueden provocar un cambio de aminoácido en la secuencia de la cadena polipeptídica (SNP no sinónimos), cuando el SNP está en la tercera posición del codón, podría no afectar la secuencia de aminoácidos (SNP sinónimo) (Cargill *et al.*, 1999). En algunos casos, estas variaciones se han relacionado o asociado con enfermedades; de esta forma, se pueden usar a los SNPs como marcadores de susceptibilidad y riesgo de ciertas enfermedades (Checa, 2007).

### 1.3.3 Deleciones genéticas

Las deleciones son la pérdida de secuencias del DNA y los efectos causados por éstas dependerán del tamaño y la localización de la secuencia deletada (Clancy *et al.*, 2008). Se estima que 1 de cada 7000 personas nacen con una deleción (Jacobs *et al.*, 1992). Se ha reportado una asociación entre las deleciones y ciertas enfermedades como el síndrome del maullido del gato (Brewer *et al.*, 1998).

### 1.4 Metabolismo de xenobióticos

Los xenobióticos han sido definidos como los productos químicos a los que está expuesto un organismo y que son ajenos al metabolismo de ese organismo (Croom, 2012). Cuando un xenobiótico ingresa en el organismo, la biotransformación desempeña un importante papel en la reducción o en el incremento de posibles efectos tóxicos. La biotransformación de los xenobióticos se puede realizar por vía puramente química (hidrólisis, cambios de pH, oxidaciones, etc.) o por vía bioquímica, con participación de enzimas (Repetto, 1995).

Esta modificación puede generar alteraciones biológicas; algunos xenobióticos al someterse a la biotransformación producen metabolitos que ejercen un efecto tóxico (Curtis y Klaasen, 2003).

Las enzimas que catalizan las reacciones de biotransformación están presentes en algunos tejidos como: la piel, el pulmón, la mucosa nasal, el bazo, el ojo y, mayoritariamente, en el hígado. Estas enzimas determinan la intensidad y duración de la acción del xenobiótico y el papel que juegan en la toxicidad (Curtis y Klaasen, 2003).

La mayor parte de los xenobióticos son lipofílicos, cualidad que les permite atravesar las membranas biológicas, y por esta misma razón son difícilmente eliminables por la principal vía de excreción, que es la orina. Con la finalidad de eliminar del organismo a los xenobióticos, ocurre una serie de transformaciones que fueron clasificadas por Williams en 1969 en dos fases:

Fase I: Comprende aquellas transformaciones como: hidrólisis, reducción y oxidación, estas reacciones generalmente aumentan la hidrosolubilidad del compuesto mediante la introducción de grupos o funciones de carácter polar, como  $-OH^-$ ,  $-NH_2^-$ ,  $-COH$ ,  $-COOH$ ,  $-SH^-$ , etc. Que, además, por ser más reactivos, capacitan al compuesto para experimentar

la siguiente fase; generalmente, de un mismo compuesto se derivan varios metabolitos, algunos de los cuales son más reactivos que el compuesto original (Curtis y Klaasen, 2003; Repetto, 2009). Aunque varios sistemas de enzimas participan en el metabolismo de fase I, tal vez la vía más notable es la monooxigenación catalizada por el *citocromo P450 (CYP)*. Los *CYP* desintoxican y/o bioactivan un gran número de xenobióticos y llevan a cabo reacciones en las que se incluyen la desalquilación N- y O-, hidroxilación aromática y alifática, oxidación N- y S-, y la desaminación (Omiecinski *et al.*, 2010).

Fase II: Está constituida por las reacciones como glucuronidación, sulfatación, metilación, acetilación, la conjugación de aminoácidos y la conjugación con glutatión, en las que sustancias con los grupos polares formados en la fase I se unen a compuestos endógenos para formar derivados aún más hidrófilos que los compuestos parentales y por lo general más fácilmente excretables; En esta fase participan enzimas de las familias: *UDP-glucuronosiltransferasas (UGT)*, *sulfotransferasas (ST)*, *N-acetiltransferasas (arilamina, N-acetiltransferasas; NATs)* y *glutatión S-transferasas (GST)* y varias metiltransferasas, entre otras. (Negishi *et al.*, 2001; Repetto, 2009; Omiecinski *et al.*, 2010).

Sin la acción de enzimas de fase II, muchos xenobióticos alcanzarían concentraciones tóxicas (Croom, 2012). Se ha reportado que el daño causado a los pulmones por la exposición a xenobióticos puede estar asociado a polimorfismos en los genes involucrados en la vía de biotransformación (Gaspar *et al.*, 2004).

#### **1.4.1 Asociación de enzimas del metabolismo de xenobióticos con la EPOC**

Se ha reportado en diversos estudios variantes alélicas que codifican para las enzimas del metabolismo de xenobióticos como factores de riesgo para el desarrollo de la EPOC (Sandford *et al.*, 2002).

##### **1.4.1.1 Citocromo P450**

El citocromo P450 (*CYP*) es una gran familia multigénica con diferentes especificidades de sustrato, está presente en el pulmón y puede jugar un papel en la activación de procarcinógenos. El citocromo P450 1A1 (*CYP1A1*) es una enzima localizada en el cromosoma 15q22-24, ésta pertenece al grupo de las hemo-oxigenasas que catalizan

reacciones de óxido-reducción, el *CYP1A1* participa en la biotransformación de muchos procarcinógenos convirtiéndolos en metabolitos más reactivos capaces de unirse al DNA (Kawajiri, 1999; Tzortzaki et al., 2006).

El polimorfismo *CYP1A1* rs1048943 (A4889G) que produce el intercambio del aminoácido isoleucina por valina en el codón 462 (Ile462Val) (Hayashi *et al.*, 1991), se encuentra en el exón 7 del gen que corresponde al sitio catalítico de la proteína (Kawajiri, 1999). El polimorfismo aumenta la actividad de la enzima, y se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer de pulmón con enfisema pulmonar (Cantlay *et al.*, 1995).

#### **1.4.1.2 Glutación S-transferasa**

Las glutatión S-transferasas (*GST*) son una superfamilia de isoenzimas que participan en la eliminación de un amplio rango de xenobióticos a través del metabolismo de fase II. El proceso de desintoxicación se lleva a cabo mediante la conjugación de compuestos hidrofóbicos fáciles de excretar (Mohr *et al.*, 2003).

Las *GSTs* en los humanos son codificadas por una superfamilia de genes organizados en tándem, las proteínas se han clasificado de acuerdo con la similitud en su secuencia de aminoácidos en las clases: alfa (A), mu (M), pi (P), sigma (S), theta (T), omega (O) y zeta (Z). Cada clase tiene un número variable de isoenzimas y se ha descrito que pueden compartir algunos sustratos aunque con distinta afinidad, de tal forma que la falta de la actividad de alguna isoenzima puede ser parcialmente suplida por otra. (Hayes *et al.*, 2005; Mannervik *et al.*, 2005)

##### **1.4.1.2.1 Glutación S-transferasa Mu**

La familia *GSTM* se encuentra organizada en tándem dentro del cromosoma 1p13, la enzima *GSTM1* es uno de los cinco miembros que la conforman; esta enzima está involucrada en el metabolismo de los derivados -diol epóxido de los hidrocarburos policíclicos aromáticos y de las especies reactivas de oxígeno (Hayes *et al.*, 2005). La falta de la enzima favorece que los compuestos bioactivados por el metabolismo de fase I reaccionen con el DNA formando aductos (Hayes *et al.*, 2005).

El polimorfismo *GSTM1\*0* consiste en la delección del gen, lo que impide la expresión de la proteína funcional (Vineis *et al.*, 1999). El alelo nulo para *GSTM1* ha sido asociado con el riesgo de padecer EPOC (Baranova *et al.*, 1997; Harrison *et al.*, 1997).

#### **1.4.1.2.2 Glutación S- transferasa Theta**

El gen de la *GSTT* se encuentra en el cromosoma 22q11.2 puede desintoxicar el organismo eliminando agentes de metilación, pesticidas y muchos productos químicos presentes en el humo del cigarrillo, sin embargo presenta una menor afinidad por los sustratos generados en la combustión del cigarro (Guengerich *et al.*, 1995; Landi, 2000; Mannervik *et al.*, 2005). El polimorfismo *GSTT1\*0*, al igual que el polimorfismo *GSTM1\*0*, es la Delección del gen, lo cual impide la expresión funcional de la enzima.

#### **1.4.1.2.3 Glutación S-transferasa Pi**

El gen *GSTP* se localiza en el cromosoma 11q13.2. Es la más abundante de las GST, comparte algunas especificidades de sustrato con *GSTM1*, ya que es activa hacia muchos epóxidos de los hidrocarburos policíclicos aromáticos, incluido el benzo (a) pireno (Zimniak *et al.*, 1994; Hayes *et al.*, 1995; Spivack *et al.*, 2003). El polimorfismo *GSTP1* Ile105Val (rs1695) fue caracterizado por Zimniak y colaboradores en 1994, reportando que las variantes Ile105 y Val105 presentan características físico-químicas muy similares; sin embargo, la variante Val105 presenta un valor de Km de 3M usando como sustrato el 1-cloro- 3,4- dinitrobenzeno, mientras que la Km de la variante Ile105 fue de 0.82, así mismo los valores de Kcat fueron de 58.8 y de 52.5 para Ile105 y Val105, respectivamente; esto sugiere que la variante Val105 es menos eficiente para eliminar compuestos electrofílicos reactivos.

Por otro lado, el polimorfismo rs1695 se asoció con la obstrucción del flujo aéreo en población japonesa y con una rápida disminución del FEV1 en el estudio de salud pulmonar (He *et al.*, 2002; He *et al.*, 2004).

### **1.5 Antecedentes epidemiológicos**

Estudios epidemiológicos en diversas poblaciones han permitido asociar a estos polimorfismos con la susceptibilidad a desarrollar EPOC (Tabla I).

Tabla 1. Asociación de los polimorfismos con la EPOC en otras poblaciones.

Polimorfismo	Población	Tamaño de muestra		OR (95% IC)	Referencia
		Casos	Controles		
CYP1A1 rs1048943	India	210	136	5.11 (1.61-18.25)	Vibhuti <i>et al.</i> , 2010
CYP1A1 rs1048943	Escocesa	51	281	1.46(0.66-3.25)	Cantlay <i>et al.</i> , 1995
CYP1A1 rs1048943	Rusa	737	418	0.54 (0.33-0.89)	Korytina <i>et al.</i> , 2008
GSTT1*0	Kazajstani	60	64	2.86 (1.38-5.94)	Yechshzhanov <i>et al.</i> , 2011
GSTT1*0	Española	143	55	1.9 (0.8-4.1)	López-Campos <i>et al.</i> , 2012
GSTM1*0	Neozelandesa	669	488	1.30 (1.02-1.66)	Young <i>et al.</i> , 2011
GSTM1*0	China	60	100	2.01 (1.04-3.89)	Wang <i>et al.</i> , 2013
GSTP1 rs1695	Japonesa	53	50	3.5 (2.7-4.6)	Ishii <i>et al.</i> , 1999
GSTP1 rs1695	Croata	30	60	2.61 (1.048-6.529)	Zuntar <i>et al.</i> , 2014

Sin embargo, los resultados de estos trabajos han variado según la población, número de muestra y/o metodología, en la que se realice el estudio.

Hasta el momento no disponemos de estudios realizados en la población mexicana.

## Capítulo II

### 2.1 Justificación

Actualmente la EPOC es una patología frecuente cuya morbi-mortalidad está aumentando en México y en el mundo, los estimativos de prevalencia de la enfermedad varían entre los diversos países, estas variaciones se relacionan con los diferentes niveles de exposición a factores ambientales, y con los factores genéticos.

Aún que el tabaquismo es el factor de riesgo más asociado al desarrollo de la EPOC, solo al 15% de los fumadores presentan la patología, lo cual invita a pensar que existen factores genéticos que podrían estar influenciando en el desarrollo de la enfermedad.

La diferencia de la prevalencia entre los distintos países sustenta la idea de una predisposición genética.

### 2.2 Hipótesis

Las frecuencias de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0*, *GSTP1 Ile105Val* serán diferente en los pacientes con diagnóstico de EPOC, en comparación con los controles (sin diagnóstico de EPOC).

### 2.3 Objetivo

Determinar si existe asociación entre los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943, *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0*, *GSTP1* rs1695 y el riesgo de padecer EPOC en una muestra de población mexicana.

#### 2.3.1 Objetivos particulares

- a) Determinar la frecuencia alélica y genotípicas de los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943, *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0*, *GSTP1* rs1695 en una muestra de población mexicana con diagnóstico de EPOC.
  
- b) Determinar la frecuencia alélica y genotípicas de los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943, *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0*, *GSTP1* rs1695 en una muestra de población mexicana sin diagnóstico de EPOC.

- c) Determinar si existe una asociación de riesgo del entre el sexo y la exposición al tabaco y/o al humo de leña en una muestra de población mexicana con diagnóstico de EPOC y sin diagnóstico de EPOC.
  
- d) Determinar en una muestra de población mexicana, si existe una asociación entre los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943, *GSTT1*\*0, *GSTM1*\*0, *GSTP1* rs1695 y algunos factores ambientales, con el riesgo para desarrollar la EPOC.

## Capítulo III

### Diseño experimental

#### 3.1 Diseño del estudio de casos y controles

Las frecuencias alélicas de los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943, *GSTM1* nulo, *GSTT1* nulo, *GSTP1* rs1695, fueron determinadas previamente en nuestro laboratorio en población mexicana sana por Pérez-Morales *et al.*, 2011.

De acuerdo con las frecuencias obtenidas, calculamos el número mínimo de muestras requerido para los diferentes polimorfismos en un estudio de casos y controles aplicando la siguiente fórmula:

$$n = \left[ \frac{z\left(\frac{\alpha}{2}\right) \sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}}{p_1 - p_2} \right]^2$$

(Tomada de: Campbell *et al.*, 1995; Skaik, 2010)

Donde  $Z_{\alpha/2} = 1.96$  para un nivel de confianza del 95%,  $Z_{1-\beta} = 0.80$  con un poder estadístico del 80%,  $p_2$  es la frecuencia de exposición de los controles,  $p_1$  es un estimado de la frecuencia de exposición de los casos derivados de reportes previos de OR's con los polimorfismos de interés (Cantlay *et al.*, 1995; López-Campos *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013; Zuntar *et al.*, 2014) y  $p = (p_1 + p_2)/2$ .

De acuerdo con esta estimación, la muestra necesaria para un estudio de casos y controles con una potencia de 80% es de 150 casos y 150 controles para *CYP1A1* rs1048943, 130 casos y 130 controles para *GSTM1*\*0, 140 casos y 140 controles para *GSTT1*\*0, 150 casos y 150 controles para *GSTP1* rs1695.

#### 3.2 Sujetos

Los sujetos incluidos en este estudio fueron sujetos mexicanos (nacidos en México con padres y abuelos mexicanos) y no relacionados entre sí. Todos los participantes respondieron un cuestionario de covariables epidemiológicas y firmaron una carta de consentimiento informado.

Los sujetos sin diagnóstico de EPOC fueron donadores de sangre del Hospital "20 de Noviembre" del ISSSTE de la ciudad de México, estas muestras fueron recolectadas en el

periodo de octubre de 2001 a noviembre de 2004, mientras que, los sujetos con diagnóstico de EPOC fueron provenientes de la clínica de EPOC del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” (INER) de la ciudad de México, estas muestras se recolectaron en el periodo de 2011-2014.

Ambos grupos cumplieron las características de inclusión y exclusión determinadas para este estudio (Tabla II).

El protocolo de investigación fue aprobado por los Comités de Bioética del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México y del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. El banco de sangre del Hospital “20 de Noviembre” del ISSSTE dio su autorización para utilizar los “buffy coat” de algunas muestras para extraer el DNA.

Tabla II. Características de inclusión y exclusión

Sujetos	Inclusión	Exclusión
Con diagnóstico de EPOC	-Individuos mexicanos (padres y abuelos mexicanos) -Con diagnóstico de EPOC (Bronquitis crónica o enfisema pulmonar) -No relacionados	-Individuos extranjeros -Información incompleta -Diagnóstico de asma -Relacionados
Sin diagnóstico de EPOC	-Individuos mexicanos (padres y abuelos mexicanos) -Sin diagnóstico de EPOC hasta el momento de la toma de muestra. -No relacionados	-Individuos extranjeros -Información incompleta -Relacionados

### 3.3 Colecta y procesamiento de muestras.

Previo a nuestro estudio, se colectaron aproximadamente 1500 muestras de donadores de sangre del Hospital “20 de Noviembre”, para formar el banco de sangre del Laboratorio No. 3 del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

Se colectaron 300 muestras de pacientes con diagnóstico de EPOC, y se tomaron 5 mL de sangre periférica obtenida mediante punción venosa.

La extracción de DNA genómico se hizo mediante el método de gradiente de sacarosa (Daly, 2006). Una vez extraído el DNA se comprobó la integridad a través de geles de

agarosa al 1% y la pureza de las muestras se evaluó con la determinación de relación de absorbancia 260/280 nm en el espectrofotómetro (NanoDrop®).

### 3.4 Genotipificación.

La genotipificación de los polimorfismos se realizó mediante las técnicas PCR-multiplex para los polimorfismos *GSTT1\*0* y *GSTM1\*0*, utilizando el protocolo reportado por Abdel-Rahman y colaboradores en 1996 (Abdel-Rahman *et al.*, 1996); y PCR-RFLP's (Jeffreys, 1985) para los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943 y *GSTP1* rs1695.

La amplificación fue realizada en un termociclador *Multigene OPTIMAX* (LabNet Inc.). Las condiciones para la amplificación de los diversos fragmentos se muestra en la Tabla III.

Tabla III. Condiciones para la genotipificación de los polimorfismos

Polimorfismo	Primer secuencia 5'-3'	Longitud de fragmento (pb)	Condiciones de PCR	Ciclos	Enzima de restricción	Tamaño de los fragmentos digeridos (pb)
<i>CYP1A1</i> rs1048943	F: CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAGC R: TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC	204	30'' 94°C 30'' 63°C 30'' 72°C	35	BsrDI	WT: 149, 55 H: 204, 149, 55 M: 204
<i>GSTP1</i> rs1695	F: ACCCCAGGGCTCTATGGGAA R: TGAGGGCACAAGAAGCCCCT	176	20'' 94°C 20'' 60°C 20'' 72°C	30	BsmAI	WT: 176 H: 176, 91, 85 M: 91, 85
<i>GSTM1*0</i>	F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG	215	60'' 94°C 45'' 59°C 45'' 72°C	35	NA	NA
<i>GSTT1*0</i>	F: TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC R: TCACCGGATCATGGCCAGCA	480				

En el caso de los polimorfismo *CYP1A1* rs1048943 y *GSTP1* rs1695, una vez amplificados los fragmentos fueron digeridos mediante enzimas de restricción BsrDI y BsmAI (Biolabs), posteriormente los productos de la digestión fueron separados por electroforesis en geles al 4% de agarosa y visualizados en un transiluminador (Bio-Rad Hercules, CA, USA).

Se realizaron 300 genotipificaciones (150 casos y 150 controles) para el polimorfismo *CYP1A1* rs1048943, 280 genotipificaciones (140 casos y 140 controles) para los polimorfismos *GSTT1\*0* y *GSTM1\*0*, y 300 genotipificaciones (150 casos y 150 controles) para el polimorfismo *GSTP1* rs1695.

Sin embargo, este número de muestras no pudo trabajarse en nuestro estudio, ya que no se pudo contar con los cuestionarios de covariables epidemiológicas de varias muestras, así como, algunas muestras no cumplieron los criterios de inclusión para el estudio (Tabla II). Se trabajaron con 75 muestras de casos (con diagnóstico de EPOC) y 75 muestras de controles (sin diagnóstico de EPOC), las cuales fueron pareadas por sexo y edad, para reducir las variables de confusión.

### **3.5 Análisis estadístico**

Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los genes analizados en ambos grupos de muestras. El equilibrio de Hardy-Weinberg se determinó en las muestras de casos y controles para cada polimorfismo, cuando fue posible detectarlo.

Los factores de riesgo epidemiológico y el riesgo de desarrollar EPOC fueron examinados utilizando una prueba de  $X^2$  con el programa GraphPad Prism 5.

De igual forma, se utilizó la prueba de  $X^2$  para determinar la asociación entre la EPOC y los polimorfismos, se realizaron tablas 2x2 para calcular los ORs con un intervalo de confianza (IC) del 95%. Los heterócigos y los homócigos mutantes fueron comparados con el genotipo homócigo silvestre.

Se realizó una regresión logística multivariada con el programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences), para determinar el papel de las variantes de riesgo y la asociación con la EPOC.

Las diferencias estadísticas fueron consideradas cuando  $p < 0.5$ , todos los valores de  $p$  reportados son de dos colas.

## Capítulo IV

### Resultados y discusión.

#### 4.1 Resultados

Se determinó la frecuencia genotípica y alélica de los polimorfismos en ambas poblaciones (Tablas IV y V), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Todos los genotipos en este estudio estuvieron bajo el equilibrio Hardy-Weinberg, sin embargo para las delecciones (*GSTT1* y *GSTM1*) no fue posible realizar este análisis, debido a la imposibilidad de identificar los genotipos heterocigos mediante la técnica de la PCR múltiple.

Tabla IV. Frecuencia de los polimorfismos en la muestra con diagnóstico de EPOC.

Polimorfismo	Genotipo	n (%)	Frecuencia genotípicas	Frecuencias alélicas
<i>GSTT1</i> *0 (n=140)	Nulo	51 (36.41)	-	0.3642
	Presente	89 (63.57)	-	0.6357
<i>GSTM1</i> *0 (n=140)	Nulo	79 (56.42)	-	0.5642
	Presente	61 (43.57)	-	0.4350
<i>GSTP1</i> rs1695 (n=150)	A/A	47 (31.33)	0.3133	A/A= 0.5333 G/G= 0.4666
	A/G	66 (44)	0.44	
	G/G	37 (24.66)	0.2466	
<i>CYP1A1</i> rs1048943 (n=150)	A/A	80 (53.33)	0.5327	A/A= 0.6933 G/G= 0.3066
	A/G	48 (32)	0.3177	
	G/G	22 (14.66)	0.1495	

Tabla V. Frecuencia de los polimorfismos en la muestra sin diagnóstico de EPOC.

Polimorfismo	Genotipo	n (%)	Frecuencia genotípicas	Frecuencias alélicas
<i>GSTT1*0</i> (n=140)	Nulo	45 (32.14)	-	0.3214
	Presente	95 (67.85)	-	0.6785
<i>GSTM1*0</i> (n=140)	Nulo	55 (39.28)	-	0.3928
	Presente	85 (60.71)	-	0.6071
<i>GSTP1</i> rs1695 (n=150)	Ile/Ile	45 (30.0)	0.30	A/A= 0.52 G/G= 0.48
	Ile/Val	66 (44.0)	0.44	
	Val/Val	39 (26.0)	0.26	
<i>CYP1A1</i> rs1048943 (n=150)	Ile/Ile	56 (37.33)	0.3733	A/A= 0.4999 G/G= 0.4999
	Ile/Val	38 (25.33)	0.2533	
	Val/Val	56 (37.33)	0.3733	

Para nuestro estudio de casos y controles, trabajamos con 150 muestras: 75 muestras de pacientes con EPOC pareadas por sexo y edad con 75 muestras de individuos sin diagnóstico de EPOC.

En la Tabla VI se muestran las características de ambas poblaciones, estos datos fueron obtenidos de los cuestionario de covariables epidemiológicas que respondió cada uno de los sujetos. En cuanto a la exposición a factores de riesgo encontramos una asociación marginalmente de riesgo con el tabaquismo  $p=.0521$ ; sin embargo, ya que este dato y el de exposición al humo de leña no aparecen en todos los cuestionarios de covariables que se aplicaron a los donadores de sangre, se decidió realizar tablas de contingencia, para incluir la variable "Sin dato". Los valores obtenidos en las tablas de contingencia fueron de riesgo para ambas variables. El valor de  $p$  en relación con la exposición al humo de leña fue de  $p=0.0025$ , mientras que para el tabaquismo fue de  $p=0.0246$ .

Tabla VI. Características de ambas poblaciones.

Características		Casos n=75 (%)	Controles n=75 (%)	OR (IC 95%)	p valor
Sexo (M; F)		40; 35	40; 35	-	-
Edad (años)		64.85 ±9.74	68.13 ±10.93	-	-
Exposición al humo de leña	No	30 (40)	29 (38.66)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Sí	31 (41.33)	15 (20)	0.5345 (0.2400-1.190)	0.1232
	Sin dato	14 (18.66)	31 (41.33)	-	-
Tabaquismo	No	20 (26.66)	27 (36)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Sí	46 (61.33)	30 (40)	2.070 (0.9886-4.334)	0.0521*
	Sin dato	9 (12)	18 (24)	-	-

M masculino, F femenino; <sup>a</sup> Valor de referencia, ± desviación estándar; prueba utilizada: X<sup>2</sup>, \*<p=0.05.

Realizamos una asociación de las variables de riesgo con el sexo. En la Tabla VII, observamos una asociación de riesgo con la exposición al humo de leña y el sexo femenino (p= 0.0354); De igual manera en la Tabla VIII encontramos una asociación de riesgo con el tabaquismo y el sexo masculino (p= 0.0403).

Al realizar tablas de contingencia, encontramos que, la exposición al humo de leña en ambos sexos fue de riesgo (hombres p=0.0474 y mujeres p= 0.0075), mientras que en el tabaquismo sólo observamos la asociación de riesgo con el sexo masculino (p=0.0079\*\*).

Tabla VII. Asociación de la exposición al humo de leña con el sexo.

Humo de leña	Masculino				Femenino			
	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%)	p valor	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%)	p valor
Sin exposición	20 (50)	17 (42.5)	1.0 <sup>a</sup>	-	10 (28.57)	13 (37.14)	1.0 <sup>a</sup>	-
Con exposición	13 (32.5)	8 (20)	1.381 (0.4631-4.120)	0.5618	19 (54.28)	7 (20)	3.529 (1.067-11.67)	0.0354*
Sin dato	7 (17.5)	15 (37.5)	-	-	6 (17.14)	15 (42.85)	-	-

<sup>a</sup> Valor de referencia, prueba utilizada: X<sup>2</sup>, \*<p=0.05

Tabla VIII. Asociación del tabaquismo con el sexo.

Tabaquismo	Masculino				Femenino			
	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%)	p valor	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%)	p valor
Sin exposición	4 (10)	9 (22.5)	1.0 <sup>a</sup>	-	16 (45.71)	18 (51.42)	1.0 <sup>a</sup>	-
Con exposición	33 (82.5)	20 (50)	3.713 (1.009-13.66)	0.0403*	15 (42.85)	10 (28.57)	1.688 (0.5928-4.803)	0.3253
Sin dato	3 (7.5)	11 (27.5)	-	-	4 (11.42)	7 (20)	-	-

<sup>a</sup> Valor de referencia, prueba utilizada X<sup>2</sup>, \*<p=0.05

Todos los resultados de las asociaciones de los polimorfismos genéticos que se reportan abajo, fueron resultado de trabajar bajo dos modelos genéticos: codominante y dominante. Esto debido a que, en publicaciones previas de otras poblaciones se han probado estos dos modelos.

En la Tabla IX se muestra la asociación entre los polimorfismos y el riesgo de padecer EPOC. En ambos modelos se encontró una asociación de no riesgo del genotipo mutante del *CYP1A1* rs1048943 Val/Val (p=0.0007 y p=0.0203).

Tabla IX. Asociación de los polimorfismos con la EPOC

Modelo codominante					
Gen	Polimorfismo	Casos n=75 (%)	Controles n=75 (%)	OR (IC 95%)	p valor
<i>GSTT1</i>	Presente	51 (68)	42 (56)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Nulo	24 (32)	33 (44)	0.5989 (0.3077-1.1166)	0.1300
<i>GSTM1</i>	Presente	35 (46.66)	46 (61.33)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Nulo	40 (53.33)	29 (38.66)	1.813 (0.9468- 3.471)	0.0715
<i>GSTP1</i>	Ile/Ile	24 (32)	21 (28)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Ile/Val	35 (46.66)	29 (38.66)	1.056 (0.4913-2.270)	0.8889
	Val/Val	16 (21.33)	25 (33.33)	0.5600 (0.2373-1.321)	0.1839
<i>CYP1A1</i>	Ile/Ile	38 (50.66)	24 (32)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Ile/Val	24 (32)	18 (24)	0.8421 (0.3796-1.868)	0.6723
	Val/Val	13 (17.33)	33 (44)	0.2488 (0.1095-0.5653)	0.0007***
Modelo dominante					
Gen	Polimorfismo	Casos n=75 (%)	Controles n=75 (%)	OR (IC 95%)	p valor
<i>GSTT1</i>	Presente	51 (68)	42 (56)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Nulo	24 (32)	33 (44)	0.5989 (0.3077-1.166)	0.1300
<i>GSTM1</i>	Presente	35 (46.66)	46 (61.33)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Nulo	40 (53.33)	29 (38.66)	1.813 (0.9468-3.471)	0.0715
<i>GSTP1</i>	Ile/Ile	24 (32)	21 (28)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Ile/Val+Val/Val	51 (68)	54 (72)	0.8264 (0.4105-1.664)	0.5930
<i>CYP1A1</i>	Ile/Ile	38 (50.66)	24 (32)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Ile/Val+Val/Val	37 (49.33)	51 (68)	0.4582 (0.2359-0.8898)	0.0203*

<sup>a</sup> Valor de referencia ,prueba utilizada:  $\chi^2$ , \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.005$

Posteriormente, buscamos asociar a los polimorfismos con algunos de los factores de riesgo para desarrollar EPOC, como lo son: el sexo, la edad, el tabaquismo y la exposición al humo de leña.

En la Tabla X, bajo el modelo codominante, encontramos una asociación de no riesgo del sexo masculino con los genotipos *CYP1A1* rs1048943 Ile/Val y *CYP1A1* rs1048943 Val/Val ( $p=0.0394$  y  $p=0.0290$ ) y del sexo femenino con el genotipo *CYP1A1* rs1048943 Val/Val ( $p=0.0074$ ).

Tabla X. Asociación de los polimorfismos genéticos con el sexo

MC	Masculino					Femenino			
	Genotipo	Casos n=39 (%)	Controles n=39 (%)	OR (IC 95%)	Valor p	Casos n=36 (%)	Controles N=36 (%)	OR (IC 95%)	Valor p
MC	CYP1A1 Ile/Ile	22 (56.41)	11 (28.20)	-	-	16 (44.44)	13 (36.11)	-	-
	Ile/Val	8 (20.51)	13 (33.33)	0.3077 (0.0983-0.962)	0.0394*	16 (44.44)	5 (13.88)	2.600 (0.7502-9.010)	0.1265
	Val/Val	9 (23.07)	15 (38.46)	0.300 (0.0999-0.9002)	0.0290*	4 (11.11)	18 (50)	0.1806 (0.0488-0.6677)	0.0074**
	GSTP1 Ile/Ile	11 (28.20)	8 (20.51)	-	-	14 (38.88)	12 (33.33)	-	-
	Ile/Val	21 (53.84)	17 (43.58)	0.8984 (0.2952-2.734)	0.8503	13 (36.11)	13 (36.11)	1.167 (0.3926-3.467)	0.7814
	Val/Val	7 (17.94)	14 (35.89)	0.3636 (0.1005-1.316)	0.1189	9 (25)	11 (30.55)	0.8182 (0.2541-2.635)	0.7365
MD	GSTT1 Presente	26 (66.66)	22 (56.41)	-	-	24 (66.66)	19 (52.77)	-	-
	Nulo	13 (33.33)	17 (43.58)	0.6471 (0.2582-1.622)	0.3519	12 (33.33)	17 (47.22)	0.5588 (0.2154-1.450)	0.2296
	GSTM1 Presente	17 (43.58)	23 (58.97)	-	-	17 (47.22)	22 (61.11)	-	-
	Nulo	22 (56.41)	16 (41.02)	1.860 (0.7571-4.571)	0.1741	19 (52.77)	14 (38.88)	1.756 (0.6883-4.482)	0.2370
	CYP1A1 Ile/Ile	22 (56.41)	11 (28.20)	-	-	16 (44.44)	13 (36.11)	-	-
	Ile/Val + Val/Val	17 (43.59)	28 (71.80)	1.706 (0.7804-3.729)	0.1786	20 (55.56)	23 (63.89)	0.7065 (0.2743-1.820)	0.4710
MD	GSTP1 Ile/Ile	11 (28.20)	8 (20.51)	-	-	14 (38.88)	12 (33.33)	-	-
	Ile/Val + Val/Val	28 (71.80)	31 (79.49)	0.6569 (0.2311-1.867)	0.4287	22 (61.12)	24 (66.67)	0.7857 (0.2996-2.061)	0.6236
	GSTT1 Presente	26 (66.66)	22 (56.41)	-	-	24 (66.66)	19 (52.77)	-	-
Nulo	13 (33.33)	17 (43.58)	0.6471 (0.2582- 1.622)	0.3519	12 (33.33)	17 (47.22)	0.5588 (0.2154-1.450)	0.2296	

	GSTM1 Presente	17 (43.58)	23 (58.97)	-	-	17 (47.22)	22 (61.11)	-	-
	Nulo	22 (56.41)	16 (41.02)	1.860 (0.7571-4.571)	0.1741	19 (52.77)	14 (38.88)	1.756 (0.6883-4.482)	0.2370

<sup>a</sup> Valor de referencia, MD modelo dominante, MC modelo codominante, prueba utilizada: X<sup>2</sup>, \*<p=0.05, \*\*<p=0.005.

Al analizar los polimorfismos con el factor de riesgo edad (Tablas XI.I) encontramos una asociación de no riesgo con el grupo de 55-64 años y el genotipo *CYP1A1* rs1048943 Val/Val en ambos modelos (modelo codominante p= 0.0141 y modelo dominante p=0.0142).

Tabla XI.I. Asociación de los polimorfismos genéticos con la edad.

MC	Genotipo	Edad: 37-54,				Edad: 55-64			
		Casos n= 6 (%)	Controles n= 6 (%)	OR (IC95%)	Valor p	Casos n= 22 (%)	Controles n= 22 (%)	OR (IC 95%)	Valor p
	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile	2 (33.33)	1 (16.66)	1.0 <sup>a</sup>	-	13 (59.09)	5 (22.72)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Ile/Val	3 (50)	4 (66.66)	0.3750 (0.0221-6.352)	0.4902	5 (22.72)	7 (31.81)	0.2747 (0.0587-1.286)	0.0942
	Val/Val	1 (16.66)	1 (16.66)	0.500 (0.0127-19.58)	0.7094	4 (18.18)	10 (45.45)	0.1538(0.0325-0.7265)	0.0141*
	<i>GSTP1</i> Ile/Ile	5 (50)	2 (33.33)	1.0 <sup>a</sup>	-	8 (36.36)	5 (22.72)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Ile/Val	1 (16.66)	2 (33.33)	0.200 (0.0109-3.663)	0.2598	9 (40.90)	9 (40.90)	0.6250 (0.1466-2.665)	0.5241
	Val/Val	0 (0)	2 (33.33)	0.0909 (0.0030-2.684)	0.0730	5 (22.72)	8 (36.36)	0.3906 (0.0804-1.898)	0.2393
	<i>GSTT1</i> Presente	5 (50)	5 (50)	1.0 <sup>a</sup>	-	14 (63.63)	16 (72.72)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Nulo	1 (16.66)	1 (16.66)	1.00 (0.0479-20.85)	1.00	8 (36.36)	6 (27.27)	1.524 (0.4241- 5.475)	0.5174
	<i>GSTM1</i> Presente	2 (33.33)	4 (66.66)	1.0 <sup>a</sup>	-	11(50)	14 (63.63)	1.0 <sup>a</sup>	-
	Nulo	4 (66.66)	2 (33.33)	4.00 (0.3625-44.14)	0.2482	11 (50)	8 (36.36)	1.750 (0.5241- 5.843)	0.3612
	MD	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile	2 (33.33)	1 (16.66)	1.0 <sup>a</sup>	-	13 (59.09)	5 (22.72)	1.0 <sup>a</sup>
	Ile/Val	4 (66.67)	5 (83.34)	0.40 (0.0258-6.180)	0.5050	9 (40.91)	17 (77.28)	0.2036(0.0549-0.7550)	0.0142*
	Val/Val								

	<i>GSTP1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	5 (83.33) 1 (16.67)	2 (33.33) 4 (66.67)	1.0 <sup>a</sup> 0.10 (0.0064-1.545)	- 0.0790	8 (36.36) 14 (63.64)	5 (22.72) 17 (77.28)	1.0 <sup>a</sup> 0.5147 (0.1371-1.932)	- 0.3216
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	5 (50) 1 (16.66)	5 (50) 1 (16.66)	1.0 <sup>a</sup> 1.00 (0.0479-20.85)	- 1.00	14 (63.63) 8 (36.36)	16 (72.72) 6 (27.27)	1.0 <sup>a</sup> 1.524 (0.4241- 5.475)	- 0.5174
	<i>GSTM1</i> Presente Nulo	2 (33.33) 4 (66.66)	4 (66.66) 2 (33.33)	1.0 <sup>a</sup> 4.00 (0.3625-44.14)	- 0.2482	11(50) 11 (50)	14 (63.63) 8 (36.36)	1.0 <sup>a</sup> 1.750 (0.5241- 5.843)	- 0.3612

<sup>a</sup>Valor de referencia, MD modelo dominante, MC modelo codominante, prueba utilizada:  $\chi^2$ , \* $p < 0.05$

En el grupo de mayores de 75 años (Tabla XI.II) encontramos en ambos modelos, una asociación de riesgo con el polimorfismo *GSTM1\*0* ( $p=0.0086$ ).

Tabla XI.II. Asociación de los polimorfismos genéticos con la edad.

MC	Edad: 65-74					Edad: $\geq 75$			
	Genotipo	Casos n= 28 (%)	Controles n= 28 (%)	OR (IC 95%)	Valor p	Casos n= 19 (%)	Controles n= 19 (%)	OR (IC 95%)	Valor p
	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	14 (50) 10 (35.71) 4 (14.28)	11 (39.28) 4 (14.28) 13 (46.42)	1.0 <sup>a</sup> 1.964 (0.4828-7.991) 0.2418(0.0613-0.9526)	- 0.3421 0.0369	9 (47.36) 6 (31.57) 4 (21.05)	7 (36.84) 3 (15.78) 9 (47.36)	1.0 <sup>a</sup> 1.556 (0.2835-8.535) 0.3457 (0.0742-1.608)	- 0.6098 0.1700
	<i>GSTP1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	8 (28.57) 14 (50) 6 (21.42)	9 (32.14) 11 (39.28) 8 (28.57)	1.0 <sup>a</sup> 1.432 (0.4154-4.935) 0.8438 (0.2031-3.506)	- 0.5690 0.8150	3 (15.78) 11 (57.89) 5 (26.31)	5 (26.31) 7 (36.84) 7 (36.84)	1.0 <sup>a</sup> 2.619 (0.4704-14.58) 1.190 (0.1900-7.459)	- 0.2650 0.8522
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	17 (60.71) 11 (39.28)	10 (35.71) 18 (64.28)	1.0 <sup>a</sup> 0.3595 (0.1217-1.062)	- 0.0612	14 (73.68) 5 (26.31)	10 (52.63) 9 (47.36)	1.0 <sup>a</sup> 0.3968 (0.1017-1.549)	- 0.1786

	<i>GSTM1</i> Presente Nulo	14 (50) 14 (50)	12 (42.85) 16 (57.14)	1.0 <sup>a</sup> 0.7500 (0.2616-2.150)	- 0.5920	7 (36.84) 12 (63.15)	15 (78.94) 4 (21.05)	1.0 <sup>a</sup> 6.429 (1.516-27.25)	- 0.0086**
MD	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile + Ile/Val Val/Val	14 (50) 14 (50)	11 (39.28) 17 (60.72)	1.0 <sup>a</sup> 0.6471 (0.2241-1.868)	- 0.4200	9 (47.36) 10 (52.64)	7 (36.84) 12 (63.16)	1.0 <sup>a</sup> 0.6481 (0.1773-2.370)	- 0.5111
	<i>GSTP1</i> Ile/Ile + Ile/Val Val/Val	8 (28.57) 20 (71.43)	9 (32.14) 19 (67.86)	1.0 <sup>a</sup> 1.184 (0.3783-3.707)	- 0.7713	3 (15.78) 16 (84.22)	5 (26.31) 14 (73.69)	1.0 <sup>a</sup> 1.905 (0.3840-9.448)	- 0.4261
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	17 (60.71) 11 (39.28)	10 (35.71) 18 (64.28)	1.0 <sup>a</sup> 0.3595 (0.1217-1.062)	- 0.0612	14 (73.68) 5 (26.31)	10 (52.63) 9 (47.36)	1.0 <sup>a</sup> 0.3968 (0.1017-1.549)	- 0.1786
	<i>GSTM1</i> Presente Nulo	14 (50) 14 (50)	12 (42.85) 16 (57.14)	1.0 <sup>a</sup> 0.7500 (0.2616-2.150)	- 0.5920	7 (36.84) 12 (63.15)	15 (78.94) 4 (21.05)	1.0 <sup>a</sup> 6.429 (1.516-27.25)	- 0.0086**

<sup>a</sup> Valor de referencia, MC modelo codominante, MD modelo dominante X<sup>2</sup>, \*p<0.05, \*\*p<0.005

En la Tabla XII, encontramos una asociación significativa en ambos grupos. En el grupo con exposición al humo de leña, encontramos en ambos modelos, al genotipo *GSTT1*\*0 con una asociación de no riesgo (p=0.0281); mientras que, en el grupo sin exposición al humo de leña encontramos al genotipo *CYP1A1* rs1048943 Val/Val con una asociación de no riesgo con en el modelo codominante (p=0.0393).

Tabla XII. Asociación de los polimorfismos genéticos con la exposición a humo de leña.

MC	Genotipo	Con exposición al humo de leña				Sin exposición al humo de leña			
		Casos n=15 (%)	Controles n=15 (%)	OR (IC95%)	Valor p	Casos n= 29 (%)	Controles n=29 (%)	OR (IC 95%)	Valor p

	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	8 (53.33) 5 (33.33) 2 (13.33)	5 (33.33) 3 (20) 7 (46.66)	1.0 <sup>a</sup> 1.042 (0.1694-6.405) 0.1786 (0.0259-1.229)	- 0.9649 0.0686	16 (55.17) 8 (27.58) 5 (17.24)	10 (34.48) 7 (24.13) 12 (41.37)	1.0 <sup>a</sup> 0.7143 (0.1974-2.585) 0.2604(0.0703-0.9642)	- 0.6075 0.0393*
	<i>GSTP1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	4 (26.66) 9 (60) 2 (13.33)	4 (26.66) 7 (46.66) 4 (26.66)	1.0 <sup>a</sup> 1.286 (0.2343-7.054) 0.500 (0.0558-4.476)	- 0.7721 0.5329	9 (31.03) 11 (37.93) 9 (31.03)	9 (31.03) 12 (41.37) 8 (27.58)	1.0 <sup>a</sup> 0.9167 (0.2668-3.150) 1.125 (0.2984-4.242)	- 0.8901 0.8619
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	11 (73.33) 4 (26.66)	5 (33.33) 10 (66.66)	1.0 <sup>a</sup> 0.1818 (0.037-0.8735)	- 0.0281*	21 (72.41) 8 (27.58)	16 (55.17) 13 (44.82)	1.0 <sup>a</sup> 0.4689 (0.1568- 1.402)	- 0.1719
	<i>GSTM1</i> Presente Nulo	4 (26.66) 11 (73.33)	8 (53.33) 7 (46.66)	1.0 <sup>a</sup> 3.143 (0.6808-14.51)	- 0.1360	15 (51.72) 14 (48.27)	16 (55.17) 13 (44.82)	1.0 <sup>a</sup> 1.149 (0.4090- 3.227)	- 0.7924
MD	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile Ile/Val + Val/Val	8 (53.33) 7 (46.67)	5 (33.33) 10 (66.67)	1.0 <sup>a</sup> 0.4375 (0.0998-1.917)	- 0.2690	16 (55.17) 13 (44.83)	10 (34.48) 19 (65.52)	1.0 <sup>a</sup> 0.4276 (0.1482-1.234)	- 0.1132
	<i>GSTP1</i> Ile/Ile Ile/Val + Val/Val	4 (26.66) 11 (73.34)	4 (26.66) 11 (73.34)	1.0 <sup>a</sup> 1.0 (0.1981-5.047)	- 1.0	9 (31.03) 20 (68.97)	9 (31.03) 20 (68.97)	1.0 <sup>a</sup> 1.0 (0.3286-3.043)	- 1.0
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	11 (73.33) 4 (26.66)	5 (33.33) 10 (66.66)	1.0 <sup>a</sup> 0.1818 (0.037-0.8735)	- 0.0281*	21 (72.41) 8 (27.58)	16 (55.17) 13 (44.82)	1.0 <sup>a</sup> 0.4689 (0.1568- 1.402)	- 0.1719
	<i>GSTM1</i> Presente Nulo	4 (26.66) 11 (73.33)	8 (53.33) 7 (46.66)	1.0 <sup>a</sup> 3.143 (0.6808-14.51)	- 0.1360	15 (51.72) 14 (48.27)	16 (55.17) 13 (44.82)	1.0 <sup>a</sup> 1.149 (0.4090- 3.227)	- 0.7924

<sup>a</sup> Valor de referencia, MC modelo codominante, MD modelo dominante, prueba utilizada: X<sup>2</sup>, \*p<0.05

Finalmente, en la Tabla XIII, encontramos una asociación de no riesgo en ambos modelos, con el tabaquismo y el genotipo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup> (modelos codominante p=0.0099 y dominante= 0.0201).

Tabla XIII. Asociación de los polimorfismos genéticos con el tabaquismo.

MC	Genotipo	Con tabaquismo				Sin tabaquismo			
		Casos n=30 (%)	Controles n=30 (%)	OR (IC95%)	Valor p	Casos n=27 (%)	Controles n=27 (%)	OR (IC 95%)	Valor p
	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	19 (63.33) 5 (16.66) 6 (20)	10 (33.33) 5 (16.66) 15 (50)	1.0 <sup>a</sup> 0.5263 (0.1226-2.260) 0.2105(0.0622-0.7116)	- 0.3844 0.0099**	11 (40.74) 12 (44.44) 4 (14.81)	11 (40.74) 6 (22.22) 10 (37.03)	1.0 <sup>a</sup> 2.00 (0.5515-7.253) 0.400 (0.0957-1.671)	- 0.2888 0.2036
	<i>GSTP1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	10 (33.33) 13 (43.33) 7 (23.33)	7 (23.33) 12 (40) 11 (36.66)	1.0 <sup>a</sup> 0.7583 (0.2184-2.633) 0.4455 (0.1151-1.724)	- 0.6628 0.2383	9 (33.33) 13 (48.14) 5 (18.51)	9 (33.33) 11 (40.74) 7 (25.92)	1.0 <sup>a</sup> 1.182 (0.3474-4.021) 0.7143 (0.1636-3.118)	- 0.7890 0.6540
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	20 (66.66) 10 (33.33)	16 (53.33) 14 (46.66)	1.0 <sup>a</sup> 0.5714 (0.2010- 1.624)	- 0.2918	18 (66.66) 9 (33.33)	13 (48.14) 14 (51.85)	1.0 <sup>a</sup> 0.4643(0.1545-1.395)	- 0.1688
	<i>GSTM1</i> Presente Nulo	14 (46.66) 16 (53.33)	11 (36.66) 19 (63.33)	1.0 <sup>a</sup> 0.6617 (0.2356- 1.858)	- 0.4321	10 (37.03) 17 (62.96)	14 (51.85) 13 (48.14)	1.0 <sup>a</sup> 1.831 (6177- 5.426)	- 0.2733
	<i>CYP1A1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	19 (63.33) 11 (36.67)	10 (33.33) 20 (66.67)	1.0 <sup>a</sup> 0.2895 (0.1001-0.8373)	- 0.0201*	11 (40.74) 16 (59.26)	11 (40.74) 16 (59.26)	1.0 <sup>a</sup> 1.0 (0.3376-2.962)	- 1.0
MD	<i>GSTP1</i> Ile/Ile Ile/Val Val/Val	10 (33.33) 20 (66.67)	7 (23.33) 23 (76.67)	1.0 <sup>a</sup> 0.6087 (0.1953-1.897)	- 0.3901	9 (33.33) 18 (66.67)	9 (33.33) 18 (66.67)	1.0 <sup>a</sup> 1.0 (0.3224-3.101)	- 1.0
	<i>GSTT1</i> Presente Nulo	20 (66.66) 10 (33.33)	16 (53.33) 14 (46.66)	1.0 <sup>a</sup> 0.5714 (0.2010- 1.624)	- 0.2918	18 (66.66) 9 (33.33)	13 (48.14) 14 (51.85)	1.0 <sup>a</sup> 0.4643(0.1545-1.395)	- 0.1688

<i>GSTM1</i>									
Presente	14 (46.66)	11 (36.66)	1.0 <sup>a</sup>	-	10 (37.03)	14 (51.85)	1.0 <sup>a</sup>	-	
Nulo	16 (53.33)	19 (63.33)	0.6617 (0.2356- 1.858)	0.4321	17 (62.96)	13 (48.14)	1.831 (6177- 5.426)	0.2733	

<sup>a</sup> Valor de referencia, MC modelo codominante, Md modelo dominante, prueba utilizada:  $X^2$ , \* $p=0.05$ , \*\* $p=0.005$

## 4.2 Discusión

La EPOC es una enfermedad multifactorial, sin embargo, unos de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad son el tabaquismo y la exposición al humo de leña; En el presente estudio, encontramos una asociación de riesgo con ambos factores, similar a algunos previamente publicados (Pérez-Padilla *et al.*, 1996; Laniado-Laborin *et al.*, 2011; INEGI 2013).

Estudios anteriores han reportado una asociación entre estas variables de riesgo y el sexo, al realizar el análisis correspondiente, encontramos una asociación de riesgo de la exposición al humo de leña con el sexo femenino y masculino, así como, del tabaquismo con el sexo masculino, este comportamiento fue previamente reportado en población mexicana por Ramírez-Venegas y colaboradores en 2005.

Actualmente existen diversos estudios de polimorfismos de baja penetrancia y su relación con la EPOC, sin embargo, los resultados varían dependiendo la población en la que se trabaja.

Nosotros determinamos las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos *CYP1A1* rs1048943, *GSTP1* rs1695, *GSTT1*\*0, *GSTM1*\*0 en pacientes con diagnóstico de EPOC y en una población sin diagnóstico de EPOC, no observamos una diferencia significativa entre ambas poblaciones.

Aún que estos polimorfismos ya han sido estudiados en otras poblaciones, su relación con la susceptibilidad a desarrollar EPOC ha sido inconsistente. Para el polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup> existen resultados contradictorios entre diversas poblaciones. En la población india se ha asociado con un riesgo a desarrollar EPOC (OR= 5.11, p= 0.001) (Vibhuti *et al.*, 2010), mientras que en poblaciones escocesa y rusa no se ha encontrado una asociación de riesgo (OR= 1.46, p= no reportado en la escocesa ; y OR=0.54, p=0.005 en la rusa) (Cantlay *et al.*, 1995; Korytina *et al.*, 2008).

En nuestro estudio encontramos una asociación de no riesgo con el polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup>, cabe mencionar, que estudios previos en nuestro grupo de trabajo, observaron el mismo comportamiento con este polimorfismo en cáncer de pulmón (Pérez-Morales *et al.*, 2013).

El efecto de no riesgo del polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup>, podría deberse al incremento en la tasa de metabolización que causa el polimorfismo (Kawajiri, 1999), ya que es activado por la vía AhR, este receptor a su vez podría activar pro-carcinógenos más rápidamente y los metabolitos reactivos serían eliminados a través de la conjugación con el glutatión (Pérez-Morales *et al.*, 2013). Esto sugeriría que el *CYP1A1* actúa como un modificador del efecto en la regulación del metabolismo de xenobióticos (Yoon-Hyeong *et al.*, 2013).

Al asociar los polimorfismos genéticos con algunos factores de riesgo, encontramos una asociación de no riesgo del polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup> con ambos sexos. En el caso del sexo femenino podemos asociarlo a la influencia hormonal, ya que los estrógenos inducen la diferenciación y maduración del pulmón, además de que la estimulación de los receptores de estrógenos en los pulmones, aumenta la expresión del *CYP* y de las vías relacionadas con éste (Kamil *et al.*, 2006). Se ha reportado que las mujeres fumadoras tiene una mayor expresión del *CYP1A1* (Kamil *et al.*, 2006).

Al estratificar a nuestra población por intervalos de edades, encontramos una asociación de no riesgo y de riesgo en los grupos de 55-64 años y  $\geq 75$  años. En el grupo de 55-64 años con el polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup>; este mismo comportamiento fue observado por Korytina y colaboradores en el 2008, donde encontraron una asociación de no riesgo (OR=0.54, p=0.005) en población rusa de  $61.98 \pm 11.65$  años; El grupo de  $\geq 75$  años con el polimorfismo *GSTM1\*0*, esta asociación fue observado previamente por Yim y colaboradores en el 2000, en una muestra de población coreana de 42-82 años (OR= 0.83). Ambos grupos atribuyen mayoritariamente estos resultados a la heterogeneidad de sus poblaciones.

Al relacionar los polimorfismos con la exposición al humo de leña, encontramos dos asociaciones, una no riesgo en el grupo sin exposición con el polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup> y una de no riesgo en el grupo expuesto con el polimorfismo *GSTT1\*0*.

La asociación de no riesgo, puede ser resultado de la ausencia de uno de los factores de riesgo (Exposición al humo de leña), sin embargo debemos considerar la presencia de otros factores, entonces, el efecto de protección puede ser resultado de la regulación del metabolismo de xenobióticos producto del polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup> (Yoon-Hyeong *et al.*, 2013).

La asociación de riesgo que encontramos en nuestro estudio, fue similar a la reportada en el meta-análisis realizado por Hosgood y colaboradores en 2007, en donde, encontraron una asociación de no riesgo del polimorfismo *GSTT1\*0* con el cáncer de pulmón en poblaciones expuestas al humo de leña. Esta asociación puede ser resultado de la delección producto del polimorfismo, ya que impide la expresión de la proteína funcional (Vineis *et al.*, 1999). Cabe mencionar que hasta el momento de la búsqueda, no se encontraron referencias en las que evalúen la asociación de este polimorfismo expuesto al humo de leña y su relación con la EPOC.

Por último, en relación al tabaquismo, encontramos una asociación de no riesgo con el polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup>, este comportamiento fue observado indirectamente en una muestra de población rusa, la cual, en su mayoría fueron fumadores y exfumadores (Korytina *et al.*, 2008). En este estudio, reportaron una asociación de no riesgo del polimorfismo *CYP1A1* rs1048943<sup>Val/Val</sup> con la EPOC.

## Capítulo V

### Conclusiones.

En nuestro estudio, confirmamos que el tabaquismo está asociado con el riesgo de padecer EPOC en una muestra de población mexicana y al estratificar a esta muestra por sexo, se encontró una asociación de riesgo del sexo masculino con el tabaquismo y del sexo femenino con la exposición al humo de leña.

Existe una asociación de no riesgo del polimorfismo *CYP1A1* rs1048943 con la EPOC en una muestra de población mexicana, este mismo comportamiento lo observamos al asociar al polimorfismo genético con algunos factores de riesgo, como lo son el sexo, la edad, la exposición al humo de leña y el tabaquismo.

De igual manera, se detectó una asociación de riesgo del polimorfismo *GSTM1\*0* con el grupo de mayores de 75 años.

Finalmente, encontramos una asociación de no riesgo del polimorfismo *GSTT1\*0* con la exposición al humo de leña

## Referencias

- Abdel-Rahman Z., El-Zein A., W. A., Au W., 1996, *Cancer Lett*, 107: 229-233.
- ALAT. 2006. Proyecto Latinoamericano de Investigación en Obstrucción Pulmonar [Consultado el 22 de abril 2015]. Disponible en: [http://www.platino-alat.org/docs/libro\\_platino\\_es.pdf](http://www.platino-alat.org/docs/libro_platino_es.pdf)
- ALAT. 2011. Asociación Latinoamericana de Tórax [Consultado el 19 de abril 2015]. Disponible en: <https://www.alatorax.org/epoc/guia-epoc-alat>
- American Lung Association. 2010. American Lung Association [Consultado el 19 de abril 2015]. Disponible en: <http://www.lung.org/about-us/publications/?referrer>
- Antón E., Ruíz D., Ancochea J., 2007, Herencia y ambiente en la EPOC, *Arch Bronconeumol*, 43:10-17.
- Aryal S, Diaz-Guzman E, Mannino M, 2013, COPD and gender differences: an update, *Transl Res*, 162(4): 208-218.
- Baranova H., Canis M., Ivaschenko T., *et al.*, 1997, Peculiarities of the GSTM1 0/0 genotype in French heavy smokers with various types of chronic bronchitis, *Hum Genet*, 99:822-826.
- Botstein D., Risch N., 2003, Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease, *Nat Gente*, 33: 228-237.
- Brewer C., Holloway S., Zawalynski P., Schinzel A., FitzPatrick D., 1998, A chromosomal deletion map of human malformation, *American Journal of Human Genetics*, 63: 1153-1159
- Brody S., Spira A., 2006, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Inflammation, and Lung Cancer, *Proc Am Thorac Soc* 3: 535-538.
- Brookes A., 1999, The essence of SNPs, *Gene*, 234(2): 177-186.
- Buist S., Vollmer M., McBurnie A., 2008, worldwide burden of COPD in high-and low-income countries. Part I. The burden of obstructive lung disease (BOLD) initiative. *Int J Tuberc Lung Dis*, 12:703-708.
- Burrows B., Knudson J., Cline G., Lebowitz D., 1977. Quantitative relationship between cigarette smoking and ventilatory function, *Am Rev Respir Dis*, 115: 195–205.
- Cantlay A., Lamb D., Gillooly M., Morrison D., *et al.*, 1995, Association between the CYP1A1 gene polymorphism and susceptibility to emphysema and lung cancer, *Clin Mol Pathol*, 48(4): M210-M214.

- Cantlay A., Lamb D., Gillooly M., Norrman J, *et al.*, 1995, Association between the CYP1A1 gene polymorphism and susceptibility to emphysema and lung cancer, *Clin Pathol*, 48: 210-214.
- Cargill M., Altshuler D., Ireland J., *et al.*, 1999, Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes, *Nat Genet*, 22(3): 231-238.
- Cavalli-Sforza, L., Feldman M., 1981, *Cultural Transmission and Evolution: A Quantitative Approach*. Princeton University Press.
- Chapman R., Mannino M., Soriano B., Vermeire A., *et al.*, 2006, Epidemiology and costs of chronic obstructive pulmonary disease, *Eur Respir J*, 27(1): 188-207.
- Checa M., 2007, Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones, *Rev INER*, 20: 213-221.
- Clancy S., Kenna M., 2008, DNA Deletion and duplication and the associated genetic disorders, *Nature Education*, 1(1):23.
- Croom E., 2012, Chapter three: Metabolism of Xenobiotics of human Environments, *Progress in Molecular biology and Translational Science*, 112: 31-88.
- Davis W., Shelton L., Watanabe S., Arnold J., 1989, Passive smoking affects endothelium and platelets, *Arch Intern Med*, 149 (2): 386-389.
- Derivadas del Cuarto Consenso Mexicano para el Diagnóstico y Tratamiento de la EPOC, 2012, *Guías para el diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica*, *Neumol Cir Torax*, 71.
- Eisner D., Anthonisen N., Coultas D., Kuenzli N., *et al.*, 2010, An official American Thoracic Society public policy statement: novel risk factors and the global burden of chronic obstructive pulmonary disease, *Am J Respir Crit Care Med*, 182(5): 693-718.
- Eriksson S, 1965, Studies in alpha-1-antitrypsin deficiency, *Acta med scand suppl*, 432: 1-85.
- Gaspar P., Moreira J., Kvitko K., Torres M, *et al.*, 2004, CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, GSTP1 and TP53 polymorphisms: do they indicate susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease and non-small-cell lung cancer?, *Genetics and Molecular Biology*, 27,2: 133-138.
- GOLD. 2011. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease [Consultado el 19 de abril 2015]. Disponible en:  
[http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD\\_Report\\_2011\\_Feb21.pdf](http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2011_Feb21.pdf)

- Grupo de Neumología y Cirugía de tórax, 2007, Panorama epidemiológico e impacto económico actual de la EPOC, Rev Colomb Neumol, 66(2): 13-16.
- Guengerich P., Their R., Persmark M., Taylor B., *et al.*, Conjugation of carcinogens by  $\theta$  class glutathione S-transferases: mechanisms and relevance to variations in human risk, Pharmacogenetics, 5: S103-S107.
- Harrison J., Cantlay M., Rae F., Lamb D., Smith A, 1997, Frequency of glutathione S-transferase M1 deletion in smokers with emphysema and lung cancer, Hum Exp Toxicol, 16: 356-360.
- Hayashi S., Watanabe J., Kawajiri K., 1991, Genetic Polymorphisms in the 5'-Flanking Region Change Transcriptional Regulation of the Human Cytochrome P450IIE1 Gene, J. Biochem, 110: 559-565.
- Hayes D., Flanagan J., Jowsey I., 2005, Glutathione Transferases, Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 45:51-88.
- He Q., Connett E., Anthonisen R., Pare d., Sandford J., 2004, Glutathione S-transferase variants and their interaction with smoking on lung function, Am J Respir Crit Care Med, 170 (4): 388-394.
- He Q., Ruan J., *et al.*, 2002, Antioxidant gene polymorphisms and susceptibility to a rapid decline in lung function in smokers, Am J Respir Crit Care Med, 166: 323-328.
- Hersh P, Dahl M, Ly P, Berkey S, *et al.*, 2004, Chronic obstructive pulmonary disease in alpha-1-antitrypsin PI MZ heterozygotes: a meta-analysis, Thorax, 59: 843-849.
- Hirvonen a., 2009, Gene-environment interactions in chronic pulmonary disease, Mutation Research, 667: 132-141.
- Hosgood D., Berndt S., Lan Q., 2007, GST genotypes and lung cancer susceptibility in Asian populations with indoor air pollution exposures: a meta-analysis, Mutat Res, 636 (1-3): 134-143.
- INEGI. 2013. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [Consultado el 13 de junio 2015]. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/default.aspx?c=274>
- INER. 2013. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias [Consultado el 22 de abril 2015]. Disponible en: [http://www.iner.salud.gob.mx/contenidos/clinica\\_epoc.html](http://www.iner.salud.gob.mx/contenidos/clinica_epoc.html)
- International HapMap Consortium, 2005, A haplotype map of the human genome, Nature, 437: 1299-1320.

- Jacobs A., Browne C., Gregson N., *et al.*, 1992, Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding, *Journal of Medical Genetics*, 29(2):103-108.
- Jordan R., Cheng K., Miller M., Abad P., 2011, Passive smoking and chronic obstructive pulmonary disease: cross-sectional analysis of data from the Health Survey for England, *BMJ open*.
- Kalsheker A, Watkins L, Hill S, Morgan K *et al.*, 1990, Independent mutations in the flanking sequence of the alpha-1-antitrypsin gene are associated with chronic obstructive airways disease, *Dis Markers*, 8:151-157.
- Kamil F., Pinzon I., Foreman M., 2013, Sex and race factors in early-onset COPD, *Curr Opin Pulm Med*, 19(2): 140-144.
- Kawajiri K., 1999, Metabolic Polymorphisms and susceptibility to Cancer, *IARC Sci Pub*, 148: 159-172.
- Klaassen, Curtis D. 2003. *Casarett and Doull's Essentials of Toxicology*. USA: McGraw-Hill Medical.
- Ko W., Hui S., 2009, Outdoor air pollution: impact on chronic obstructive pulmonary disease patients, *Curr Opin Pulm Med*, 15(2):150-157.
- Korytina G., Akhmadishina L., Kochetova O., Zagidullin Sh. Victorova T, 2008, Association of Polymorphisms of the CYP1A1 and CYP1A2 CytochromeP450 Genes with Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Bashkortostan, *Molecular Biology*, 42: 27-36.
- Kueppers F, Briscoe A, *et al.*, 1964, Hereditary deficiency of serum alpha-1-antitrypsin, *Science*, 146: 1678-1679.
- Kurmi P., Semple s., Steiner M., Henderson D., Ayres G., 2008, Particulate matter exposure during domestic work in Nepal, *Ann Occup Hyg*, 52(6) 509-517.
- Landi S., 2000, Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review, *Mutat Res*, 463(3):247-283.
- Lange P., Marott L., Vestbo J., Olsen R *et al.*, 2012, Prediction of the Clinical Course of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *Am J Respir Crit Care Med*, 186 (10): 975-981.
- Laniado-Laborín R., 2009, Smoking and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). Parallel Epidemics of the 21<sup>st</sup> Century, *International Journal of Environmental research and Public Health*, 6: 209-224.

- Laniado-Laborin R., Rendón A., Bauwerle O., 2011, Chronic obstructive pulmonary disease case finding in Mexico in an at-risk population, *Int J Tuberc Lung Dis*, 15(6): 818-823.
- Lisker R. 1981. Estructura genética de la población mexicana: aspectos médicos y antropológicos. México: Salvat.
- Liu W., Wang C., Lin H., Lin S-M., *et al.*, 2008, Efficacy of a cell phone-based exercise programme for COPD, *Eur Respir J*, 32: 651-659.
- Lopez D., Mathers D., Ezzati M., Jamison T., Murray L. 2006. Global burden of disease and risk factors. USA: The World Bank.
- López-Campos J., Sáenz F., Márquez E., Calero C., *et al.*, 2012, Estudio de la asociación de los polimorfismos de la Glatation S-transferasa y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en la raza caucásica, *Rev Esp Patol Torac*, 24(4): 309-315.
- Lundbäck B., Lindberg A., Lindström M., Rönmark E., *et al.*, 2003, Not 15 but 50% of smokers develop COPD? Report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies, *Respiratory Medicine*, 97: 115-122.
- Mannervik B., Board G., Hayes D., Listowsky I., Pearson R., 2005, Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases, *Methods Enzymol*, 401: 1-8.
- Mannino M., Buist S., 2007, Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends, *Lancet*, 370: 765-73.
- Mohr C., Rodgers K., Silvestri A., 2003, Glutathione S-transferase M1 polymorphism and the risk of lung cancer, *Anticancer Research*, 23(3A): 2111-2124.
- Murray J., Lopez D., 1997, Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study, *Lancet*, 349: 1498-1504.
- Negishi M., Pedersen G., Petrotchenko E., Shevtsov S. *et al.*, 2001, Structure and function of sulfotransferases, *Arch. Biochem.*, 390: 149-157.
- Oliva R. 2004. Genética Médica. España: Edicions Universitat Barcelona.
- Omiecinski C., Vanden J., Perdew G., Peters J., 2010, Xenobiotic Metabolism, disposition and Regulation by Receptors: From Biochemical Phenomenon to Predictors of Major Toxicities, *Toxicol. Sci.*, 120: S49-S75.
- Pauwels R., Rabe K., 2004, Burden and Clinical features of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), *Lancet*, 364: 613-20.

- Pérez-Morales R., Méndez-Ramírez I., Moreno-Macias H., Mendoza-Posadas A., *et al.*, 2014, Genetic Susceptibility to Lung Cancer Based on Candidate Genes in a Sample from the Mexican Mestizo Population: A Case-Control Study, *Lung*, 192: 167-173.
- Pérez-Padilla R., Regalado J., Vedal S., Paré P., *et al.*, 1996, Exposure to biomass smoke and chronic airway disease in Mexican woman. A case-control study, *Am J Respir Crit Care Med*, 154 (pt 1): 701-706.
- Porta M., Crous M., 2005, La acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas: un proceso causal clave entre el medio ambiente y las enfermedades de etiología compleja, *Gac Sanit*, 19(4): 273-276.
- Ramírez R., 2007, Calidad de vida y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, *Rev Cienc Salud*, 5(1): 90-100.
- Ramírez-Venegas A., Sansores R., Pérez-Padilla R., Regalado J., *et al.*, 2005, Survival of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Due to Biomass Smoke and Tobacco, *Am J Respir Crit Care Med*, 173: 393-397.
- Rennard S., *et al.*, 2008. Clinical Management of chronic Obstructive Pulmonary Disease. USA: Ed. Informa Healthcare, 2° ed.
- Repetto M. 1995. Toxicología avanzada. España. Díaz de Santos.
- Saetta M., 1999, Airway Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *Am J Respir Crit Care Med*, 160: S17-S20.
- Sandford a., Silverman E., 2002, Chronic obstructive pulmonary disease, 1: Susceptibility factors for COPD the genotype-environment interaction, *Thorax* 57: 736-741.
- Sandford A., Silverman E., 2002, Chronic obstructive pulmonary disease 1: susceptibility factors for COPD the genotype-environment interaction, *Thorax*, 57: 736-741.
- Schork J., Fallin D., Lanchbury S., 2000, Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology, *Clin Genet*, 58: 250-264.
- Silverman K, Weiss T, Drazen M *et al.*, 2000, Gender-related differences in severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease, *Am J Respir Crit Care Med*, 162:2152-2158.
- Smith K R. 1987. Biofuels, air pollution and health: a global review. USA: Plenum Press.
- Spivack D., Hurteau G., Fasco-Laurence M., Kaminsky S., 2003, Phase I and II carcinogen metabolism gene expression in human lung tissue and tumors, *Clin Cancer Res*, 9: 6002-6011.

- Stern A., Morgan J., Wright L., *et al.*, 2007, Poor airway function in early infancy and lung function by age 22 years: a non-selective longitudinal cohort study, *Lancet* 370: 758–764.
- Stoller J, MD, MS, Sandhaus R, *et al.*, 2005, Delay in diagnosis of  $\alpha_1$ -Antitrypsina deficiency\*: A continuing problem, *Chest*, 128(4): 1989-1994.
- Sundeep S., Barnes P., 2009, Chronic Obstructive Pulmonary Disease in non-smokers, *Lancet*, 374:733-43.
- Tzortzaki E., Tsoumakidou M., Makris D., Siafakas N., 2006, Laboratory markers for COPD in “susceptible” smokers, *Clinical Chimica*, 364: 124-138.
- Vibhuti A., arif E., Mishra a., Deepak D., *et al.*, 2010, CYP1A1, CYP1A2 and CYPA gene polymorphisms associated with oxidative stress in COPD, *Clin Chim Acta*, 411:474-480.
- Viegi G., Simoni M., Scognamiglio A., *et al.* 2004, Indoor air pollution and airway disease. *Int J Tuberc Lung Dis*, 8: 1401–1415.
- Vignal A., Milan D., SanCristobal M., *et al.*, 2002, A review of SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics, *Gener Set Evol*, 34: 275-305.
- Vineis P., Malats N., Lang M., d’Errico N., *et al.*, 1999, Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer, IARC Scientific Publications, 148.
- Wang x., Li W., Liu W., Cai B., *et al.*, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms as major risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a Chinese Han population, *Gene*, 533: 48-51.
- WHO.2006. World Health Organization [Consultado el 13 de mayo 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/indoorair/publications/fuelforallife.pdf>.
- WHO.2007. World Health Organization [Consultado el 13 de mayo 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs292/en/index.html> Accessed 15 November 2007
- WHO.2008. World Health Organization [Consultado el 22 de abril 2015]. Disponible en: [http://www.who.int/respiratory/copd/World\\_Health\\_Statistics\\_2008/en/](http://www.who.int/respiratory/copd/World_Health_Statistics_2008/en/)
- WHO.2008. World Health Organization [Consultado el 3 de mayo 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/tobacco/mpower/2008/es/>
- WHO.2012. World Health Organization [Consultado el 16 de mayo 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs315/en/>
- Williams T. 1969. The metabolism and detoxication of drug, toxic substances and other organic compound. USA: 2<sup>nd</sup> ed. Wiley.

- Yechshzhanov T., Akparova A., Bersimbay R., 2011, Association of Xenobiotic Detoxification Enzymes Gene Polymorphism in Predisposition of Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *Journal of Life Sciences*, 5: 777-783.
- Yim J., Young G., Choon-Taek L., Young K., Sung H., *et al.*, 2000, Genetic susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Koreans: combined analysis of polymorphic genotypes for microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase M1 and T1, *Thorax*, 55: 121-125.
- Yoon-Hyeong C., Jin K., Yun-Chul H., 2013, CYP1A1 genetic polymorphism and polycyclic aromatic hydrocarbons on pulmonary function in the elderly: Haplotype-based approach for gene-environment interaction, *Toxicology Letters*, 221: 185-190.
- Zimniak P., Nanduri B., Pikula S., Bendorowicz-Pikula J., *et al.*, Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties, *Eur J Biochem*, 224: 893-899.